

**Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Etanol
Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.),
Rimpang Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Sunti* Val.)
dan Kombinasinya pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster**

Elin Yulinah S., Joseph I. Sigit, Nurul Fitriyani
Kelompok Keahlian Farmakologi, Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi,
Institut Teknologi Bandung, Bandung

Abstract

Antiplatelet aggregation effect of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.) and ginger (*Zingiber officinale* var. *Sunti* Val.) ethanol extract and its combination has been investigated in Swiss Webster mice. The test substances were given orally during the period of 28 days. Antiplatelet aggregation effect was tested by measuring bleeding time, coagulation time, and decreasing plasma absorbance to observe platelet aggregation activity before and after addition of ADP as platelet aggregation inducer. Based on the inhibition of plasma absorbance decrease, noni fruits extract at a dose of 100 mg/kg body weight, ginger extract at a dose of 50 mg/kg body weight, combination of noni fruits at a dose of 100 mg/kg body weight and ginger extract at dose of 50 mg/kg body weight as well as combination of each 50 and 25 mg/kg body weight showed the effect of platelet aggregation inhibition of $66.67 \pm 11.79\%$ ($p=0.028$); $72.67 \pm 18.62\%$ ($p=0.020$); $63.00 \pm 18.27\%$ ($p=0.033$); and $77.14 \pm 19.24\%$ ($p=0.016$) respectively. The test substances above increased bleeding time of $422.83 \pm 42.36\%$ ($p<0.001$); $409.40 \pm 190.69\%$ ($p=0.009$); $552.03 \pm 182.23\%$ ($p=0.003$); $441.67 \pm 209.46\%$ ($p=0.010$) respectively and increased coagulation time of $33.52 \pm 22.55\%$ ($p=0.049$); $48.56 \pm 29.26\%$ ($p=0.035$); $39.40 \pm 18.71\%$ ($p=0.017$) and $58.42 \pm 25.85\%$ ($p=0.010$) respectively. There were no significant differences among the combination extract of 1 dosage each; of $\frac{1}{2}$ dosage each; and single dosage of the extract in increasing bleeding time, coagulation time, and inhibition of platelet aggregation.

Keywords: Antiplatelet aggregation, ginger, noni fruits, ADP.

Pendahuluan

Jahe merah dengan nama latin *Zingiber officinale* Rosc. Var *Sunti* Val banyak digunakan dalam campuran jamu dan bahan obat. Jahe merah mengandung minyak atsiri, gingerol, zingerol, shogaol, gingediol, gingerdion, capsaisin. Minyak atsirinya mengandung alfa dan beta pinen, kumen, kamfen, mirsen, limonen, sineol, beta felandren, p-simen, sitral, linalool, borneol, bornil asetat, geraniol, zingiberen, zingiberenol dll. Jahe digunakan masyarakat sebagai pereda

sakit kepala, menghilangkan bengkak, mengatasi sakit pada menstruasi, antiemetik, diuretik, stimulan, karminatif obat diare pada kolera, disentri dan emenagogum.^{1,2}

Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* Linn.) digunakan masyarakat untuk peluruh haid, penurun demam, peluruh dahak, obat batuk, mengatasi hati yang bengkak, obat tuberkulosis, tonikum, penurun tekanan darah, obat kencing manis, disentri, sebagai pencahar, astringen, dll. Kandungan kimia mengkudu adalah morindin,

morindon, prokseronin, rubidin, skopoletin, asam oktanoat, kalium, vitamin C, vitamin A, terpenoid, asperulosid, asam kaprilat, asam kaproat dan rutin.^{2,3}

Baik jahe merah maupun mengkudu digunakan untuk bengkak atau radang yang akan berpengaruh kepada hambatan sintesis tromboksan A2 yang berperan pada agregasi platelet. Platelet terlibat dalam reaksi imunologi dan inflamasi dalam respon terhadap luka pada pembuluh darah. Agregasi platelet memberi banyak keuntungan bagi organisme, seperti pada hemostasis, fagositosis benda asing, interaksi dengan virus, bakteri atau kompleks antigen-antibodi. Akan tetapi, di lain pihak, agregat platelet dapat berbahaya, contohnya adalah trombosis dan embolisme yang dapat meningkatkan faktor risiko terjadinya penyakit kardiovaskular.⁴

Jika terjadi kerusakan pada pembuluh darah maka platelet yang bersirkulasi akan berinteraksi satu sama lain membentuk trombus platelet yang merupakan suatu agregat-agregat platelet yang teraktivasi. Agregat platelet ini akan menutupi luka/kerusakan yang terjadi pada pembuluh kecil dan mencegah terjadinya kebocoran darah.⁵

Pada saat platelet terstimulasi untuk menempel pada dinding pembuluh darah maka akan terjadi pelepasan isi granul yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain. Agregasi juga ditingkatkan dengan adanya pelepasan faktor von Willebrand dari sel endotelial yang merupakan senyawa pengikat untuk reseptor membran platelet yaitu glikoprotein GpIb dan fibrinogen. Platelet yang teraktivasi juga melepaskan adenosin difosfat (ADP) dan

tromboksan A2 yang akan menarik platelet sehingga menyebabkan perubahan bentuk platelet, pelepasan isi granul dan agregasi lebih jauh. Platelet yang teraktivasi selanjutnya akan melepaskan faktor yang menyebabkan terjadinya pembekuan darah sehingga terjadi pembentukan trombus kompleks pada dinding pembuluh darah. Trombin sendiri dapat menstimulasi lebih jauh pelepasan granul platelet dan menarik platelet yang baru. Protein membran platelet GpIIb dan GpIIIa selanjutnya berinteraksi dengan fibrin dan fibrinogen, suatu proses yang akan menstabilkan trombus yang terbentuk.^{5,6}

Trombus atau bekuan darah tidak akan menempel pada dinding pembuluh darah, tetapi terus terbawa atau mengalir dalam aliran darah sampai plasmin mencernanya atau tersangkut dalam suatu pembuluh darah kecil. Trombus yang menjadi sumbatan dalam pembuluh darah disebut embolus dan sering merintangi sirkulasi sehingga terjadi iskemia dan kerusakan jaringan. Perintangan tersebut disebut tromboemboli. Tromboemboli merupakan salah satu penyebab sakit dan kematian yang banyak terjadi. Kelainan ini sering merupakan penyulit atau menyertai penyakit lain misalnya gagal jantung, diabetes melitus, varises vena dan kerusakan arteri.^{4,7} Data statistik WHO dalam laporan kesehatan dunia tahun 2003 menunjukkan bahwa 16,7 juta atau sekitar 29,2% dari total kematian di seluruh dunia disebabkan oleh penyakit kardiovaskular.⁸

Senyawa antiplatelet seperti asetosal terbukti dapat mengganggu proses terjadinya agregasi platelet secara *in vitro* dan meningkatkan waktu perdarahan secara *in vivo*. Asetosal menghambat sintesis prostaglandin

tromboksan A₂ melalui asetilasi enzim siklooksigenase sehingga tidak terjadi perubahan bentuk platelet yang mengakibatkan pelepasan isi granul dan agregasi. Dosis lazim asetosal adalah 160–320 mg.⁹

Beberapa tanaman herbal yang sering digunakan oleh masyarakat untuk mencegah tromboemboli diantaranya jahe merah dan mengkudu.

Penelitian ini bertujuan untuk menguji adanya efek antiagregasi platelet pada ekstrak etanol jahe merah dan ekstrak etanol buah mengkudu serta ingin meneliti apakah dalam kombinasi ekstrak terjadi peningkatan efek.

Bahan dan Cara

Bahan

Mengkudu diperoleh dari kebun di Purwakarta dan jahe merah dari kebun di Pangalengan, air suling, alkohol 70%, natrium sitrat, natrium karboksimetilselulosa, natrium klorida 0,9%, asetosal, pereaksi ADP (Sigma-Aldrich).

Alat

Pipa kapiler, mikropipet, tabung sentrifuga (*Eppendorf*), kertas saring, kapas, gunting, alat sentrifuga, jarum oral, spektrofotometer visibel (*Spectronic 21-D*), *restrainer*, pinset.

Hewan Uji

Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan galur Swiss Webster berumur 2–3 bulan dan bobot badan 25–35 g yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

Cara Percobaan

Orientasi Dosis

Pada orientasi dosis digunakan 6 kelompok yang masing-masing kelompok terdiri dari 3 ekor mencit.

Orientasi dosis dilakukan dengan cara memberikan bahan uji, aspirin, dan suspensi natrium karboksimetilselulosa 0,5% secara oral sehari sekali selama 28 hari berturut-turut. Dosis yang digunakan adalah 50 dan 100 mg/kg bobot badan untuk setiap bahan uji dan 42,25 mg/kg bobot badan untuk aspirin. Parameter yang digunakan yaitu waktu perdarahan yang diukur pada hari ke-7, 14, 21, dan 28 serta penurunan serapan plasma yang diukur pada hari ke-28. Hasil orientasi dosis diolah secara statistik menggunakan uji *t-student* kemudian dipilih dosis yang berbeda bermakna terhadap kontrol dan memberikan efek terapi yang paling baik untuk digunakan dalam pengujian selanjutnya.

Pengujian Efek Antiagregasi Platelet.¹⁰

Mencit dibagi menjadi 6 kelompok yang masing-masing kelompoknya terdiri atas 5 ekor mencit. Pengujian dilakukan dengan memberikan bahan uji dengan dosis hasil orientasi secara oral sekali sehari selama 28 hari berturut-turut. Kombinasi ekstrak diberikan pada dosis dengan perbandingan 1 dosis : 1 dosis dan ½ dosis : ½ dosis dari dosis tunggal setiap bahan uji. Parameter yang digunakan yaitu waktu pendarahan, waktu koagulasi, dan penurunan serapan plasma yang diukur pada hari ke-7, 14, 21, dan 28. Hasil uji diolah secara statistik menggunakan uji *t-student*.

Pengukuran Waktu Pendarahan.¹⁰

Ujung ekor mencit dilukai, darah yang keluar diserap dengan kertas penjerap. Interval waktu antara timbulnya tetes pertama darah hingga darah berhenti mengalir adalah waktu perdarahan.

Pengukuran Waktu Koagulasi.¹⁰

Ujung ekor mencit dilukai, darah yang keluar diserap dengan pipa

kapiler selama 30 detik. Pipa kapiler dipatahkan setiap interval 15 detik hingga teramati pembentukan benang fibrin pada bagian yang dipatahkan, waktu koagulasi ditentukan.

Pengukuran Penurunan Serapan Plasma.¹⁰

Darah mencit ditambah dengan natrium sitrat 3,18% disentrifuga selama 15 menit. Plasma darah diambil sebanyak 250 μ l lalu ditambah natrium klorida 0,9%. Serapan plasma diukur dengan Spectronic 21-D pada panjang gelombang 600 nm. Serapan plasma diukur kembali setelah penambahan 30 μ l larutan ADP 5 μ M sebagai penginduksi agregasi platelet dan inkubasi selama 20 menit dalam inkubator kocok suhu 37°C. Penurunan serapan plasma dihitung dengan menghitung selisih serapan plasma sebelum dan setelah pemberian larutan penginduksi.

Hasil dan Pembahasan

Pada pengujian ini terdapat tiga parameter yang diamati, yaitu waktu pendarahan, waktu koagulasi, dan penurunan serapan plasma. Waktu perdarahan diamati untuk melihat pengaruh bahan uji terhadap proses pembentukan sumbat hemostatik sementara, yaitu proses hemostasis fase platelet. Waktu dari mulai terjadinya luka sampai terbentuknya sumbat hemostatik sementara pada daerah yang luka disebut waktu pendarahan. Adanya efek ditunjukkan oleh waktu pendarahan yang semakin panjang setelah pemberian bahan uji.

Pengamatan pada waktu koagulasi bertujuan untuk melihat pengaruh bahan uji terhadap proses pembentukan sumbat hemostatik

sekunder, yaitu proses hemostasis fase koagulasi. Selama fase koagulasi, berbagai enzim dan proenzim berinteraksi. Aktivasi pada satu proenzim umumnya membentuk suatu enzim yang mengaktivasi suatu proenzim kedua dan seterusnya dalam suatu reaksi berantai. Tahapan dalam fase koagulasi menyebabkan perubahan fibrinogen yang bersirkulasi menjadi fibrin yang tidak larut dan fibrin menutup permukaan sumbatan platelet. Platelet diperangkap di dalam suatu struktur yang sangat berserabut, membentuk suatu bekuan darah yang menutup secara efektif bagian yang terluka dari pembuluh. Adanya efek ditunjukkan oleh waktu koagulasi yang semakin panjang setelah pemberian bahan uji.

ADP merupakan penginduksi utama untuk agregasi platelet, perubahan bentuk platelet, dan sekresi platelet. ADP dan faktor pengaktivasi platelet lainnya dilepaskan oleh sel-sel endotelial pada daerah yang luka selama fase vaskular. ADP menyebabkan agregasi platelet melalui pengikatan pada reseptor protein yang terdapat pada membran platelet. Platelet yang teraktivasi akan melepaskan isi granula yang akan meningkatkan agregasi dengan platelet yang lain. Aktivitas platelet tersebut dapat terlihat dari perubahan serapan plasma yang diukur secara turbidimetri pada panjang gelombang 600 nm. Serapan plasma awal menunjukkan kekeruhan plasma yang mengandung platelet yang belum teragregasi. Setelah pemberian ADP, serapan plasma akan menurun karena platelet-platelet dalam plasma mulai membentuk agregat kemudian mengendap sehingga kekeruhan plasma berkurang. Pada obat yang berefek antikoagulan akan menghambat

penurunan serapan plasma sehingga penurunannya lebih sedikit. Orientasi dosis dilakukan untuk mendapatkan dosis yang memberikan efek terapi yang paling efektif sehingga pengujian efek

kombinasi dapat dilakukan bersamaan dengan pengujian efek tunggal dalam kondisi yang sama.

Tabel 1 Waktu Pendarahan Mencit pada Orientasi Dosis

Kel.	Ekstrak	Waktu Pendarahan (detik)								
		Hari ke-0	Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 50 mg/kg	53,33 ± 5,51	121,33 ± 35,56*	0,001	124,33 ± 25,89 *	0,005	90,67 ± 32,15 *	0,002	161,33 ± 29,37*	0,001
II	Mengkudu dosis 100 mg/kg	63,67 ± 8,50	182,33 ± 54,08*	0,000	152,33 ± 25,97 *	0,000	146,33 ± 10,26*	0,000	265,00 ± 26,66*	0,000
III	Jahe merah dosis 50 mg/kg	47,33 ± 6,51	94,33 ± 4,62*	0,023	164,00 ± 40,45 *	0,000	140,67 ± 29,48*	0,000	153,33 ± 5,69*	0,022
IV	Jahe merah dosis 100 mg/kg	48,33 ± 12,86	77,00 ± 7,55	0,116	127,00 ± 17,78 *	0,002	108,67 ± 19,55*	0,002	193,00 ± 44,84*	0,000
V	Pembanding (Asetosal)	51,67 ± 3,21	128,00 ± 29,14*	0,001	169,67 ± 13,58 *	0,000	171,67 ± 24,13*	0,000	390,33 ± 62,14*	0,000
VI	Kontrol (Susp.Natrium Karboksimetil selulosa 0,5%)	56,67 ± 13,87	56,67 ± 6,81	0,102	60,00 ± 9,00	0,810	56,67 ± 7,57	0,131	57,67 ± 9,29	0,858

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap hari ke-0 pada $p < 0,05$

Dosis yang digunakan dalam orientasi dosis merupakan dosis yang lazim digunakan oleh masyarakat dan pada penelitian terdahulu telah terbukti memiliki efek farmakologi. Hasil orientasi dosis menunjukkan persentase peningkatan waktu pendarahan untuk ekstrak mengkudu dosis 50 mg/kg bb pada hari ke-28 sebesar $208,85 \pm 92,23\%$ ($p=0,058$) dan untuk dosis 100 mg/kg bb sebesar $329,69 \pm 86,74\%$ ($p=0,021$). Untuk ekstrak jahe merah, persentase peningkatan waktu pendarahan sebesar $227,25 \pm 21,51\%$ ($p=0,004$) pada dosis 50 mg/kg bb dan $301,53 \pm 28,65\%$ ($p<0,001$) pada dosis 100 mg/kg bb (Tabel 2). Pada parameter penurunan serapan plasma, persentase perubahan yang terjadi pada

ekstrak mengkudu dosis 50 mg/kg bb dan jahe merah dosis 100 mg/kg bb menunjukkan nilai yang tidak berbeda bermakna jika dibandingkan terhadap kontrol. Sedangkan untuk ekstrak mengkudu dosis 100 mg/kg bb dan jahe merah dosis 50 mg/kg bb menunjukkan nilai yang berbeda bermakna terhadap kontrol dengan persentase perubahan berturut-turut sebesar $47,61 \pm 4,12\%$ ($p=0,001$) dan $60,18 \pm 13,13\%$ ($p=0,025$) (Tabel 3). Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, dapat disimpulkan bahwa dosis yang akan digunakan dan dikombinasikan lebih lanjut pada pengujian efek antiagregasi platelet adalah 100 mg/kg bb untuk ekstrak

mengkudu dan 50 mg/kg bb untuk
ekstrak jahe merah

Tabel 2 Persentase Peningkatan Waktu Pendarahan Mencit pada Orientasi Dosis

Kel.	Ekstrak	% Peningkatan Waktu Pendarahan terhadap Hari Ke-0							
		Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 50 mg/kg	131,32 ± 78,42	0,073	131,34 ± 26,17 *	0,011	73,19 ± 68,52	0,152	208,85 ± 92,23	0,058
II	Mengkudu dosis 100 mg/kg	184,06 ± 57,36*	0,021	138,85 ± 19,45 *	0,011	133,38 ± 41,57*	0,022	329,69 ± 86,74*	0,021
III	Jahe merah dosis 50 mg/kg	101,86 ± 30,47*	0,011	257,12 ± 134,41	0,079	206,50 ± 106,14	0,067	227,25 ± 21,51 *	0,004
IV	Jahe merah dosis 100 mg/kg	66,55 ± 46,09	0,069	180,23 ± 99,10	0,085	128,12 ± 22,16*	0,014	301,53 ± 28,65*	0,000
V	Pembanding (Asetosal)	146,01 ± 42,34*	0,005	230,35 ± 47,72 *	0,020	234,40 ± 63,34*	0,029	661,63 ± 162,39*	0,019
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetil selulos a 0,5%)	0	-	11,45 ± 35,21	-	0	-	3,43 ± 14,07	-

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap kontrol pada p<0,05

Tabel 3 Penurunan Serapan Plasma dan Persentase Hambatan Agregasi Platelet pada Orientasi Dosis

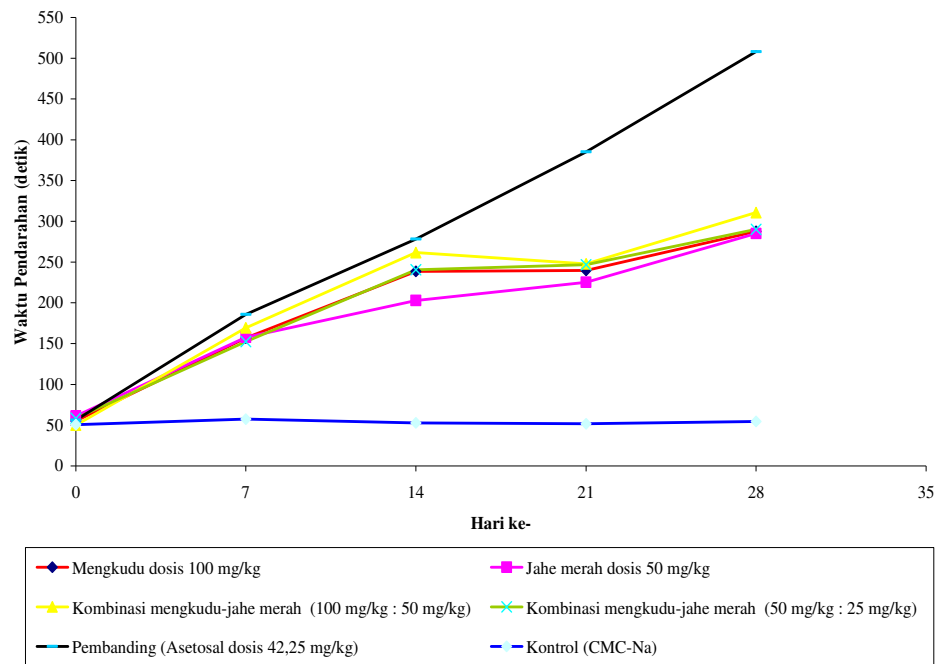
Kel.	Ekstrak	Penurunan Serapan Plasma (x 10 ⁻³)			% hambatan agregasi platelet	p
		Hari ke-0	Hari ke-28	p		
I	Mengkudu dosis 50 mg/kg	5,30 ± 1,20	5,00 ± 0,00	0,667	2,78 ± 2,06	0,414
II	Mengkudu dosis 100 mg/kg	5,70 ± 1,50	3,00 ± 1,00 *	0,015	47,61 ± 4,12 ^k	0,001
III	Jahe merah dosis 50 mg/kg	7,70 ± 1,50	3,00 ± 1,00 *	0,034	60,18 ± 13,13 ^k	0,025
IV	Jahe merah dosis 100 mg/kg	5,70 ± 0,60	4,70 ± 0,60	0,724	17,78 ± 1,92	0,714
V	Pembanding (Asetosal)	6,70 ± 1,50	1,00 ± 0,00 *	0,023	84,40 ± 3,92 ^k	0,000
VI	Kontrol (Suspensi Natrium Karboksimetil selulosa 0,5%)	6,00 ± 1,00	5,00 ± 1,00	0,534	16,98 ± 2,87	-

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap hari ke-0 pada p<0,05;

^k Berbeda bermakna terhadap kontrol pada p<0,05

Hasil pengujian efek antiagregasi platelet dengan parameter waktu pendarahan menunjukkan adanya peningkatan waktu perdarahan mencit yang bermakna sejak hari ke-7 pada semua kelompok ekstrak uji jika dibandingkan terhadap hari ke-0. Akan tetapi, peningkatannya cenderung fluktuatif pada setiap pengukuran (Tabel 4). Sedangkan untuk asetosal yang digunakan sebagai pembanding waktu pendarahannya selalu meningkat dari pengukuran yang sebelumnya. Pengukuran waktu pendarahan

kelompok kontrol pada hari ke-21 menunjukkan adanya peningkatan yang berbeda bermakna terhadap hari ke-0, akan tetapi, peningkatan tersebut tidak berbeda dengan kelompok yang lain. Waktu pendarahan ekstrak uji yang diberikan secara tunggal memiliki profil yang mirip dengan profil waktu pendarahan ekstrak uji yang diberikan secara kombinasi (gGambar 1). Hal ini mengindikasikan tidak adanya perbedaan antara pemberian tunggal dengan kombinasi.



Gambar 1 Grafik profil waktu pendarahan mencit setelah diberi bahan uji.

Tabel 4 Waktu Pendarahan Mencit pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

Kel	Ekstrak	Waktu Pendarahan (detik)							
		Hari ke-0	Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	54,98 ± 1,82	157,00 ± 20,92*	0,000	238,66 ± 15,13*	0,000	239,74 ± 29,49*	0,000	287,74 ± 28,82*
		61,10 ± 19,21	157,84 ± 32,71*		202,8 ± 38,71*		225,29 ± 56,38*		285 ± 30,59*
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	50,06 ± 17,69	169,38 ± 47,50*	0,002	261,68 ± 14,98*	0,000	247,90 ± 67,42*	0,004	310,72 ± 41,10*
		58,42 ± 16,02	152,52 ± 19,96*		240,54 ± 33,10*		246,76 ± 58,53*		290,16 ± 10,59*
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	56,34 ± 6,76	185 ± 44,25*	0,002	278,26 ± 8,97*	0,000	385,32 ± 74,30*	0,000	508,20 ± 50,89*
		50,62 ± 8,39	57,48 ± 10,41		52,86 ± 7,16		51,80 ± 7,38*		54,56 ± 6,51
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	56,34 ± 6,76	185 ± 44,25*	0,002	278,26 ± 8,97*	0,000	385,32 ± 74,30*	0,000	508,20 ± 50,89*
		50,62 ± 8,39	57,48 ± 10,41		52,86 ± 7,16		51,80 ± 7,38*		54,56 ± 6,51
V	Pembanding (Asetosal)	56,34 ± 6,76	185 ± 44,25*	0,002	278,26 ± 8,97*	0,000	385,32 ± 74,30*	0,000	508,20 ± 50,89*
		50,62 ± 8,39	57,48 ± 10,41		52,86 ± 7,16		51,80 ± 7,38*		54,56 ± 6,51
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetilselulosa 0,5%)	56,34 ± 6,76	185 ± 44,25*	0,002	278,26 ± 8,97*	0,000	385,32 ± 74,30*	0,000	508,20 ± 50,89*
		50,62 ± 8,39	57,48 ± 10,41		52,86 ± 7,16		51,80 ± 7,38*		54,56 ± 6,51

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap hari ke-0 pada $p < 0,05$

Waktu pendarahan mencit pada setiap pengukuran kemudian dihitung persentase peningkatannya terhadap waktu pendarahan sebelum diberi bahan uji. Pada hasil perhitungan, persentase peningkatan tertinggi ditunjukkan oleh kombinasi ekstrak mengkudu dan jahe merah dengan dosis masing-masing 100 dan 50 mg/kg bb yaitu sebesar $552,03 \pm 182,23\%$ ($p=0,003$), bila dibandingkan terhadap asetosal ($811,38 \pm 140,66$, $p < 0,001$), nilai tersebut relatif lebih rendah (Tabel 5). Hal ini mengindikasikan efek peningkatan waktu pendarahan yang dihasilkan oleh semua ekstrak uji tidak sebesar

efek yang dihasilkan oleh asetosal. Setelah diuji statistik, persentase kenaikan waktu pendarahan mencit pada pemberian ekstrak mengkudu dan jahe yang diberikan secara tunggal dan kombinasi tidak menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna.

Parameter yang selanjutnya diukur adalah waktu koagulasi yang menggambarkan proses hemostasis sekunder. Hasil pengujian dengan parameter waktu koagulasi menunjukkan adanya peningkatan waktu koagulasi mencit pada semua kelompok ekstrak uji setelah pemberian selama 28 hari (Tabel 6).

Tabel 5 Persentase Peningkatan Waktu Pendarahan Mencit pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

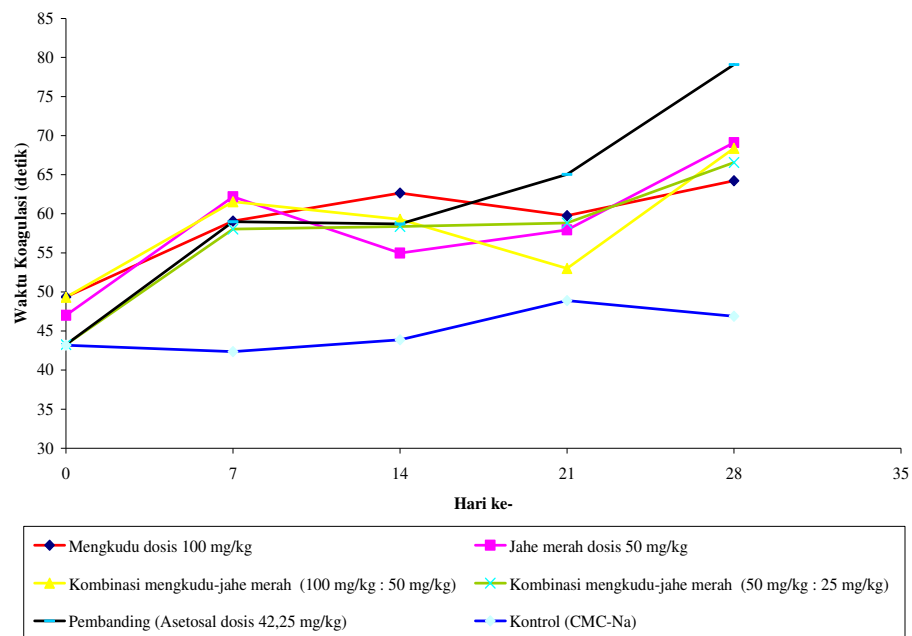
Kel.	Ekstrak	% Peningkatan Waktu Pendarahan terhadap Hari ke-0							
		Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	185,84 ± 39,83*	0,000	334,10 ± 23,69*	0,000	335,82 ± 49,39*	0,000	422,83 ± 42,36*	0,000
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	189,10 ± 145,52	0,054	262,61 ± 133,22*	0,012	309,37 ± 171,02*	0,016	409,40 ± 190,69*	0,009
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	236,66 ± 48,20*	0,000	445,36 ± 128,36*	0,001	431,05 ± 222,73*	0,012	552,03 ± 182,23*	0,003
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	177,81 ± 82,75*	0,011	360,34 ± 227,11*	0,025	369,92 ± 230,73*	0,024	441,67 ± 209,46*	0,010
V	Pembanding (Asetosal)	228,90 ± 61,78*	0,001	400,27 ± 67,85*	0,000	584,18 ± 96,21*	0,000	811,38 ± 140,66*	0,000
VI	Kontrol (Susp.Natrium Karboksimetilselulosa 0,5%)	13,64 ± 9,72	-	5,14 ± 10,73	-	4,73 ± 23,54	-	9,18 ± 15,84	-

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap kontrol pada p<0,05

Tabel 6 Waktu Koagulasi Mencit pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

Kel.	Ekstrak	Waktu Koagulasi (detik)								
		Hari ke-0	Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	49,38 ± 10,57	59,06 ± 5,72*	0,026	62,66 ± 4,80 *	0,021	59,76 ± 10,29	0,201	64,24 ± 5,86 *	0,028
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	47,00 ± 8,52	62,18 ± 12,48*	0,033	54,98 ± 13,07	0,351	57,94 ± 11,20	0,151	69,10 ± 13,63 *	0,014
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	49,32 ± 4,84	61,54 ± 12,21*	0,012	59,28 ± 12,93	0,202	53,00 ± 9,34	0,549	68,38 ± 8,07 *	0,007
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	43,26 ± 9,68	58,04 ± 6,80*	0,027	58,36 ± 6,20 *	0,048	58,82 ± 10,57	0,116	66,58 ± 4,56 *	0,001
V	Pembanding (Asetosal)	43,26 ± 6,85	58,98 ± 5,35 *	0,019	58,70 ± 6,28 *	0,039	65,04 ± 14,53	0,051	79,10 ± 10,15 *	0,003
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetilselulosa 0,5%)	43,18 ± 2,29	43,36 ± 6,91	0,775	43,88 ± 2,40	0,735	48,88 ± 8,87	0,226	46,88 ± 4,66	0,092

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap hari ke-0 pada p<0,05



Gambar 2 Grafik profil waktu koagulasi mencit setelah diberi bahan uji.

Hal ini menunjukkan adanya efek antikoagulan pada semua ekstrak uji. Persentase tertinggi ditunjukkan oleh ekstrak jahe merah dosis 50 mg/kg bb yaitu sebesar $69,10 \pm 13,63\%$ ($p=0,014$). Pada Gambar 2 dapat dilihat profil waktu koagulasi semua kelompok ekstrak. Pemberian ekstrak secara tunggal dan kombinasi memiliki profil yang berbeda, meskipun demikian, pada hari ke-28 semua kelompok ekstrak menunjukkan nilai yang berdekatan.

Pada parameter waktu koagulasi ini, dihitung pula persentase peningkatan waktu koagulasi. Pada hasil perhitungan terlihat bahwa semua bahan uji menunjukkan persentase peningkatan yang berbeda bermakna terhadap kontrol (Tabel 7). Jika dibandingkan dengan persentase peningkatan waktu pendarahan, maka

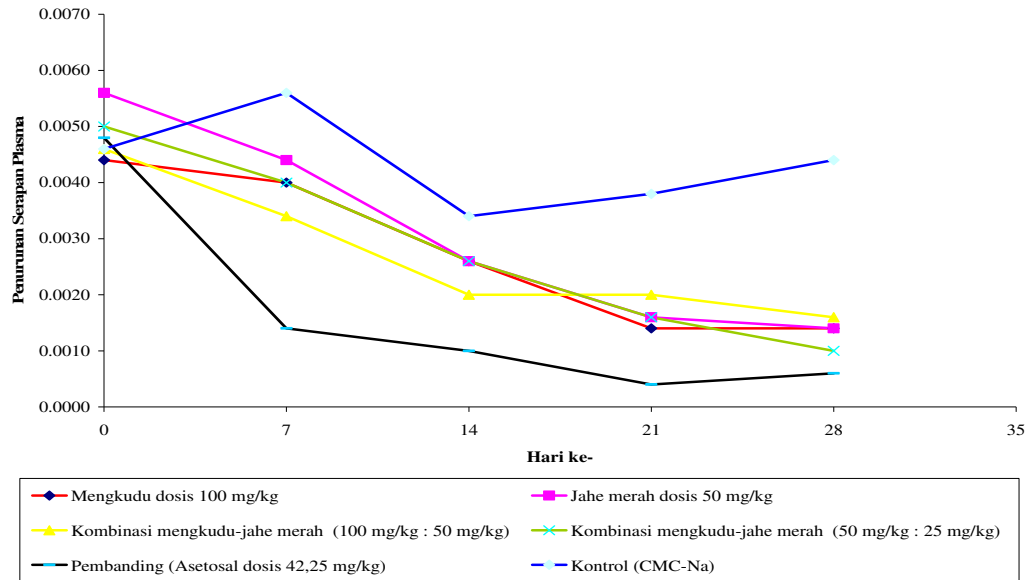
persentase peningkatan waktu koagulasi tidak sebesar persentase peningkatan waktu pendarahan. Hal ini menunjukkan bahwa kemungkinan semua ekstrak uji lebih mempengaruhi proses-proses yang terjadi pada hemostasis primer daripada hemostasis sekunder.

Pada hasil pengukuran serapan plasma setelah pemberian ekstrak uji sehari sekali selama 28 hari berturut-turut, terlihat bahwa penurunan serapan plasma semua kelompok ekstrak lebih kecil pada setiap pengukuran dibandingkan terhadap penurunan serapan pada kelompok kontrol yang berarti ekstrak uji dapat mencegah terjadinya agregasi platelet (Tabel 8 dan Gambar 3).

Tabel 7 Persentase Peningkatan Waktu Koagulasi Mencit pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

Kel	Ekstrak	% Peningkatan Waktu Koagulasi terhadap Hari ke-0							
		Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	24,36 ± 29,99	0,126	30,04 ± 20,22*	0,033	25,57 ± 38,24	0,533	33,52 ± 22,55 *	0,049
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	37,97 ± 45,84	0,124	20,41 ± 37,92	0,347	23,93 ± 19,14	0,428	48,56 ± 29,26 *	0,035
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	26,15 ± 30,13	0,109	21,57 ± 30,02	0,227	9,21 ± 26,79	0,793	39,40 ± 18,71*	0,017
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	38,46 ± 28,03*	0,028	41,72 ± 41,50	0,099	44,02 ± 51,90	0,272	58,42 ± 25,85*	0,010
V	Pembanding (Asetosal)	39,09 ± 24,73*	0,016	39,05 ± 27,88*	0,038	49,67 ± 14,78*	0,015	86,34 ± 34,83 *	0,006
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetilselulosa 0,5%)	0	-	2,01 ± 9,95	-	13,34 ± 20,95	-	8,53 ± 8,52	-

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap kontrol pada p<0,05



Gambar 3 Grafik profil penurunan agregasi platelet dengan metode penambahan ADP

Tabel 8 Penurunan Serapan Plasma Darah Mencit pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

Kel	Ekstrak	Penurunan Serapan Plasma (x10 ⁻³)								
		Hari ke-0	Hari ke-7	P	Hari ke-14	P	Hari ke-21	P	Hari ke-28	P
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	4,40 ± 1,50	4,00 ± 2,00	0,704	2,60 ± 0,90	0,053	1,40 ± 0,90*	0,028	1,40 ± 0,50*	0,009
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	5,60 ± 1,10	4,40 ± 1,10	0,070	2,60 ± 0,50	0,001	1,60 ± 0,50*	0,000	1,40 ± 0,90*	0,006
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	4,60 ± 1,10	3,40 ± 1,80	0,342	2,00 ± 0,00	0,007	2,00 ± 0,70	0,019	1,60 ± 0,50*	0,005
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	5,00 ± 1,60	4,00 ± 1,00*	0,035	2,60 ± 0,90	0,061	1,60 ± 0,50*	0,005	1,00 ± 0,70*	0,019
V	Pembanding (Asetosal)	4,80 ± 1,10	1,40 ± 0,50*	0,003	1,00 ± 0,70*	0,007	0,40 ± 0,50*	0,003	0,60 ± 0,50*	0,001
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetil selulosa 0,5%)	4,60 ± 0,90	5,60 ± 1,10	0,230	3,40 ± 1,10	0,033	3,80 ± 1,80	0,242	4,40 ± 1,50	0,847

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap hari ke-0 pada $p < 0,05$

Penurunan serapan plasma pada setiap pengukuran dicatat, kemudian dihitung persentase perubahannya terhadap penurunan serapan plasma sebelum diberi perlakuan yang menggambarkan hambatan agregasi platelet. Hambatan agregasi platelet pada mencit yang diberi ekstrak mengkudu dosis 100 mg/kg bb, ekstrak jahe merah dosis 50 mg/kg bb, kombinasi ekstrak mengkudu dan jahe merah dengan dosis masing-masing 100 dan 50 mg/kg bb serta 50 dan 25 mg/kg bb berturut-turut sebesar $66,67 \pm 11,79\%$ ($p=0,028$); $72,67 \pm 18,62\%$ ($p=0,020$); $63,00 \pm 18,27\%$ ($p=0,033$); dan $77,14 \pm 19,24\%$

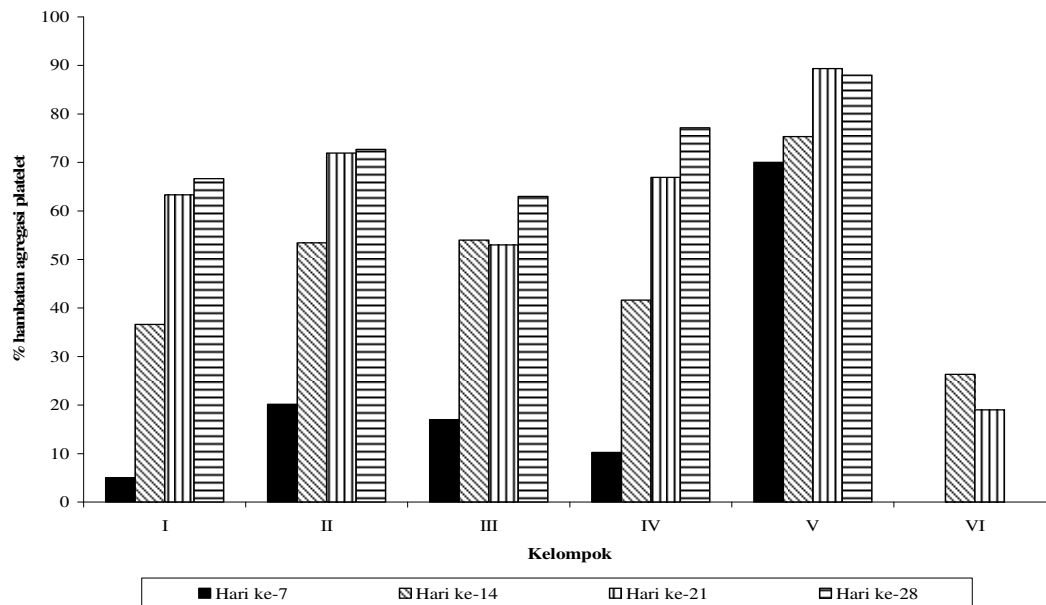
($p=0,016$) pada hari ke-28 (Tabel 9 dan Gambar 4).

Dengan demikian, kombinasi ekstrak mengkudu dan jahe merah dengan dosis masing-masing 50 dan 25 mg/kg bb dapat menghambat agregasi platelet lebih baik dari pada pemberian tunggalnya sedangkan kombinasi ekstrak mengkudu dan jahe merah dengan dosis masing-masing 100 dan 50 mg/kg bb memiliki efek yang lebih rendah dari pemberian tunggalnya. Meskipun demikian, tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara pemberian tunggal dan kombinasi setelah dilakukan uji statistik.

Tabel 9 Persentase Hambatan Agregasi Platelet pada Pengujian Efek Antiagregasi Platelet

Kel	Ekstrak	% hambatan agregasi platelet							
		Hari ke-7	p	Hari ke-14	p	Hari ke-21	p	Hari ke-28	p
I	Mengkudu dosis 100 mg/kg	5,00 ± 48,45	0,296	36,67 ± 24,72	0,486	63,33 ± 24,72*	0,043	66,67 ± 11,79*	0,028
II	Jahe merah dosis 50 mg/kg	20,19 ± 18,33*	0,049	53,43 ± 4,80*	0,034	71,95 ± 5,71*	0,021	72,67 ± 18,62*	0,020
III	Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 mg/kg : 50 mg/kg)	17,00 ± 68,33	0,265	54,00 ± 12,99*	0,034	53,00 ± 23,11	0,097	63,00 ± 18,27*	0,033
IV	Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 mg/kg : 25 mg/kg)	10,23 ± 47,12	0,219	41,61 ± 30,76	0,381	66,95 ± 10,92*	0,027	77,14 ± 19,24*	0,016
V	Pembanding (Asetosal)	70,00 ± 11,06*	0,003	75,33 ± 24,89*	0,009	89,33 ± 15,35*	0,005	88,00 ± 10,95*	0,011
VI	Kontrol (Susp. Natrium Karboksimetil selulosa 0,5%)	0	-	26,33 ± 19,59	-	19,00 ± 32,48	-	0	-

Keterangan : * Berbeda bermakna terhadap kontrol pada $p < 0,05$



Gambar 4 Grafik persentase hambatan agregasi platelet dengan metode penambahan ADP

Keterangan : I = Mengkudu dosis 100 mg/kg bb
II = Jahe merah dosis 50 mg/kg bb
III = Kombinasi mengkudu-jahe merah (100 : 50 mg /kg bb)
IV = Kombinasi mengkudu-jahe merah (50 : 25 mg/kg bb)
V = Pembanding (Asetosal dosis 42,25 mg/kg bb)
VI = Kontrol (Suspensi Natrium Karboksimetilselulosa 0,5%)

Kesimpulan

Hasil pengujian menunjukkan bahwa ekstrak mengkudu dosis 100 mg/kg bb, ekstrak jahe merah dosis 50 mg/kg bb, kombinasi ekstrak mengkudu 100 mg/kg bb dan jahe merah 50 mg/kg bb serta ekstrak mengkudu 50 mg/kg bb dan ekstrak jahe merah 25 mg/kg bb dapat meningkatkan waktu pendarahan, waktu koagulasi secara bermakna ($p < 0,05$).

Pada uji anti agregasi platelet dengan dengan mengukur serapan (metode pemberian ADP), kombinasi ekstrak mengkudu 100 mg/kg bb dan ekstrak jahe merah 50 mg/kg bb tidak menunjukkan perbedaan secara statistik dengan kombinasi ekstrak mengkudu 50 mg/kg bb dan ekstrak jahe 25 mg/kg bb serta tidak berbeda dengan masing-masing ekstrak tunggalnya tetapi kecenderungan efek lebih besar pada kombinasi ekstrak jahe merah 25 mg/kg bb dan ekstrak mengkudu 50 mg/kg bb. Pada penggunaannya dapat disarankan pemakaian kombinasi ekstrak jahe 25 mg/kg bb dengan ekstrak mengkudu 50 mg/kg bb atau ekstrak tunggal masing-masing jahe 50 mg/kg bb dan ekstrak mengkudu 100 mg/kg bb.

Daftar Pustaka

1. Tang W. Eisenbrand. Chinese Drugs of Plant Origin Chemistry Pharmacology and Use in traditional and Modern Medicine, Berlin: Springer-Verlag, 1992.
2. Perry LM. Medicinal Plant of East and Southeast Asia. Massachusetts: The MIT Press, 1980.
3. Saludes MJG, Franzblau SG, Aguinaldo A.M. Antitubercular constituents from the Hexan Fraction of *Morinda citrifolia* Linn (Rubiaceae). *Phytotherapy Res.* 2002; 16(7): 683-685.
4. Packham MA. Mustard JF. Platelet Reactions, in: Disorders of Hemostasis, New York: Grune and Stratton, 1971; 30-50.
5. Martini FH. Fundamental of Anatomy and Physiology, 4th ed. New Jersey: Prentice Hall International Inc., 1998; 623-650.
6. Mutschler E. Dinamika Obat, ed. V, terjemahan Mathilda BW. Anna SR., Bandung: Penerbit ITB, 1991; 397-401.
7. Corwin EJ. Handbook of Pathophysiology, 2nd ed., New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2000; 365-366.
8. <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/fact/cdv/>, diakses tanggal 29 Mei 2007
9. Hardman J. Goodman & Gilman's : The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed, London: Macmillan Publ. Co, 2001; 669-679, 1531
10. Vogel H.G. Drug Discovery and Evaluation, Pharmacological Assays, 2nd ed. , Berlin: Springer, 2002; 280-282, 306.

